

ステレオタックスによる合成LH-RHのラット下垂体前葉内注入における血清LH, FSHおよびprolactinの反応

著者	笹森 源弘
号	827
発行年	1974
URL	http://hdl.handle.net/10097/19108

氏 名 (本 籍) さき もり もと ひろ
笹 森 源 弘

学 位 の 種 類 医 学 博 士

学 位 記 番 号 医 第 8 2 7 号

学位授与年月日 昭 和 4 9 年 2 月 2 0 日

学位授与の要件 学位規則第 5 条第 2 項該当

最 終 学 歴 昭和 4 2 年 3 月 1 8 日
岩手医科大学卒業

学位論文題目 ステレオタックスによる合成 LH-RH のラット下
垂体前葉内注入における血清 LH, FSH および
prolactin の反応

(主 査)

論文審査委員 教授 鈴 木 雅 洲 教授 吉 永 馨

教授 菊 地 吾 郎

論文内容要旨

下垂体前葉機能を調節している視床下部と下垂体との関係について, Harris (1948) は視床下部領域において産生される特殊な神経化学物質が下垂体門脈血管を通過して下垂体前葉に到達し, その分泌活動を調節するという仮説を提唱した。その視床下部ホルモンのうちまず Saffran, Guillemin らにより ACTH の放出をおこす corticotropin-releasing factor が認められた。その後, 種々の方法により精力的に検討が続けられた結果, 相次いで殆んどすべての下垂体前葉ホルモンに対する視床下部放出因子や抑制因子の存在が確かめられた。そして 1969 年 Schally ら, および Guillemin らにより, はじめて thyrotropin-releasing hormone の構造式が明らかにされた。その後 Schally, 有村らにより luteinizing hormone releasing hormone (LH-RH) が 10 個のアミノ酸よりなる polypeptide であることが証明され, 合成もなされるにいたった。そしてこの合成 LH-RH のメカニズムについて各地で基礎的, 臨床的研究成果が数多く報告されている。しかし合成 LH-RH の下垂体注入実験は見当らない。そこで LH-RH のメカニズムを究明するために, 合成 LH-RH のラット下垂体前葉内注入, 正中隆起内注入および静脈内注入実験をおこない, 血清 LH・FSH および prolactin の動態を観察し, さらにエストロゲンが下垂体レベルで LH-RH の放出能にいかなる影響を与えるか, 又, 酸素の寡多がいかなる影響を与えるかについても検討を加えた。

実験材料および方法

生後 90 日目から 150 日目, 体重 200 g から 300 g の Wister 系メスラットを使用した。実験の行なわれる 3 週間以上前にラットの両側卵巢摘出を行なった。前処置として実験の 3 日前に dipropionate estradiol 50 μ g と hydroxy-progesterone caproate 25 μ g を皮下注射した。実験はエーテル麻酔下で行ない, 同時に酸素を投与した。脳下垂体前葉への薬液注入法として Hedge et al. (1966) の変法を用いた。方法は長さ約 10 cm, 直径約 200 ~ 250 μ のガラス管をポリエチレンチューブを介して 5 μ l 用のマイクロシリンジに接続し, これをラット用脳定位固定器に装着した。テスト薬液の下垂体前葉内注入には 30 秒以上の時間をかけ, その注入量は 0.5 μ l とした。実験予定時間直前に下垂体前葉にガラス管が正確に入っているか否かを確認するため India ink を注入した。採血は断頭により行ない, 血液は血清を分離した後, -20℃ で凍結し, 検定用に保存した。本実験では生理的食塩水注入群を対照群とし, 合成 LH-RH の投与濃度は下垂体前葉内注入群では, すべて 0.5 μ l 中に合成 LH-RH 0.02 ng, 0.2 ng, 2 ng, 20 ng の 4 群とし, 静脈内注入群では 50 μ l 中, 合成 LH-RH 0.2 ng, 2 ng, 20 ng, 200 ng の 4 群とした。正中隆起注入群では合成 LH-RH 2 ng 10.5 μ l を用いた。下垂体前葉内注入の estradiol benzoate (以下 EB と略す) 懸濁液は 0.5 μ l 中に 0.1 μ g 含有す

るものを使用した。血清 LH, FSH および prolactin 値の測定は Monroe et al. (1968) の方法に従い, 標準品は NIAMD より提供された Rat LH, FSH, prolactin-RP-1 を用い, 2 抗体法 Radioimmunoassay で行なった。ラット用脳図譜は The Blue Bird Neurological Research Laboratories 製のものを使用した。又, 各群の有意差検定には students' t-test を用いた。

実 験 成 績

1) 合成 LH-RH 2 ng の下垂体前葉注入実験において, 酸素非投与群は酸素投与群より血清 prolactin は有意の減少 ($P < 0.01$) を示し, LH, FSH も減少したが有意差はなかった。
2) 合成 LH-RH 2 ng 下垂体注入による血清 LH, FSH の放出の時間的推移をみると, 両者とも 15 分までにピークをつくった。したがって今回の実験における血清 LH, FSH, prolactin の測定には, 15 分後に採血した。
3) 合成 LH-RH は血清 LH に比し, 血清 FSH の放出作用は弱く, 下垂体に 20 ng 注入した際, 血清 LH は対照群の約 1.07 倍, 血清 FSH は約 1.8 倍の上昇を示した。
4) 血清 LH は合成 LH-RH 0.2 ng 下垂体注入 ($P < 0.05$) 以上で, また血清 FSH は合成 LH-RH 2 ng 下垂体注入 ($P < 0.01$) 以上で対照群より有意の上昇を示した。
5) EB 0.1 μ l を下垂体に注入 20 分後に合成 LH-RH 2 ng を下垂体に注入すると血清 LH は EB 非注入群に比し 46.5% の減少 ($P < 0.02$) し, FSH は 19.8% の減少 ($0.05 < P < 0.1$) を示した。そして血清 prolactin は逆に有意の上昇 ($P < 0.01$) を示した。
6) 正中隆起に合成 LH-RH 2 ng を注入すると血清 LH, FSH はともに有意の上昇 ($P < 0.05$) を示したが下垂体注入群ほど著明な上昇ではなかった。
7) 血清 prolactin は合成 LH-RH に対し有意の反応を示さなかった。

今回の実験結果より①下垂体前葉への合成 LH-RH 注入による血清 LH, FSH のピークは静注例よりも幾分遅れている, 又静注例で下垂体注入例と同じ血清 LH 値を得るには 10 倍以上の投与量を必要とすることがわかった。しかし下垂体注入例では下垂体血流量から考えられるほど大きな反応は得られなかった。これらのことは下垂体門脈注入と比べて今回の方法では Gonadotropin 分泌細胞に直接作用しにくいと思われる。
2) 合成 LH-RH の静注・正中隆起注入と比較し 2 下垂体注入ではわずか 0.2 ng で有意の反応を示し, 直接下垂体に作用することが確認された。
3) 酸素の欠乏状態が合成 LH-RH による LH, FSH そして特に prolactin の産生や放出に影響を与えていることがわかった。
4) エストロゲンの下垂体注入は prolactin の放出を起し, 又合成 LH-RH による LH, FSH 放出を減少させたことはエストロゲンが直接下垂体に作用して, negative feedback を示したものと思われる。
5) 合成 LH-RH は prolactin の放出, 抑制には影響を与えなかった。

審 査 結 果 の 要 旨

最近, Schally らにより構造決定と合成に成功した視床下部ホルモン LH-RH を用い, そのメカニズムをより究明するために, 今回, 合成 LH-RH ラット下垂体前葉内注入, 正中隆起内注入および静脈内注入実験を行ない, 血清 LH, FSH および prolactin の動態を観察し, さらに LH-RH の放出作用に estrogen と酸素がいかなる影響を与えるかを検討した。

〔 実 験 方 法 〕

生後 90~150 日, 体重 200~300 g の Wister 系メスラットを, 実験の 3 週間以上前に両側卵巢摘出を行ない, 実験 3 日前に estrogen, progesterone で前処置を行なった。テスト液の下垂体前葉注入は Hedge らの方法により, 200~250 μ 直径のガラス管をマイクロシリンジに接続し, これをラット用脳定位固定器に装着して行なった。実験はエーテル麻酔下で行なわれた。採血は断頭により, 採血後, 血清を分離し, -20℃ で Assay まで凍結保存した。血清 LH, FSH および prolactin の測定は 2 抗体法 Radioimmunoassay で行なった。合成 LH-RH の投与量は 0.02 ng, 0.2 ng, 2 ng, 20 ng であり, 下垂体, 正中隆起への注入量は 0.5 μ l とした。脳図譜は The Blue Bird Neurological Research Laboratories 製のを使用した。

〔 実 験 成 績 〕

1) 酸素非投与群は酸素投与群に比し, 血清 prolactin は有意の減少 ($P < 0.01$) を示した, そして LH, FSH も減少したが有意差は認められなかった。

2) 血清 LH および FSH の合成 LH-RH 2 ng 下垂体注入による放出の時間的推移をみると両者とも 15 分までにピークをつくった。

3) 合成 LH-RH は血清 LH に比し, 血清 FSH の放出作用は弱く, 下垂体前葉に 20 ng を注入した際, 血清 LH は対照の約 1.07 倍の上昇を示したのに対し, 血清 FSH は約 1.8 倍の上昇にとどまった。

4) 下垂体注入例において, 血清 LH は合成 LH-RH 0.2 ng 注入 ($P < 0.05$) で, また血清 FSH は合成 LH-RH 2 ng 注入 ($P < 0.01$) で対照群より有意の上昇を示した。

5) 合成 LH-RH を下垂体前葉に注入すると, 血清 LH ($P < 0.02$) および FSH ($0.05 < P < 0.1$) は減少し, 血清 prolactin ($P < 0.01$) は上昇した。

6) 正中隆起に合成 LH-RH 2 ng を注入すると血清 LH, FSH はともに有意の上昇 ($P < 0.05$) を示したが下垂体注入群ほど大きな上昇ではなかった。

7) 静注群では下垂体注入群と同じ血清 LH 値を得るには 10 倍以上の投与量を必要とした。

8) 合成 LH-RH は prolactin の放出, 抑制には影響を与えなかった。

総 括

LH-RH そのものを下垂体前葉にステレオタックスで注入し, LH, FSH, prolactin の三者の変動を同時に知り得たのは本研究の独創的なところである。従って本研究に対して学位を授与する価値があるものと認める。